

УДК: 612.085.1

СПОСОБЫ МОДЕЛИРОВАНИЯ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ ЯЗВЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА ЖИВОТНЫХ

Чернецова Анна Дмитриевна, Шукшина Анна Андреевна, Шукшина Яна Андреевна, Шарова Светлана Алексеевна

Кафедра анатомии, топографической анатомии и оперативной хирургии

ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России

Екатеринбург, Россия

Аннотация

Введение. Моделирование диабетических осложнений на лабораторных животных является ключевым моментом для разработки новых терапевтических стратегий в лечении сахарного диабета. В обзоре рассмотрены способы экспериментального моделирования диабетической язвы на крысах. **Цель исследования** – по данным литературы определить возможные способы формирования диабетической язвы в эксперименте, определить преимущества и недостатки способов, обозначить сроки заживления ран и смертность экспериментальных животных. **Материал и методы.** Анализ публикаций из научной электронной базы eLibrary, Google Академии (Scholar), открытого полнотекстового архива статей биомедицинских и естественнонаучных журналов PubMed по различным методам моделирования диабетической язвы у животных с обобщением и описанием полученных результатов. **Результаты.** Обобщены литературные данные по применяемым методам моделирования диабетической язвы: круглая рана на спине, рана на лапке. Определены особенности моделирования ран и сроки их заживления. **Выводы.** Круглая рана от 20 мм наиболее приближена к форме клинического проявления трофической, позволяет качественно изучить многие патологические процессы, протекающие в ране, изучить влияние лечебных препаратов на течение патологического процесса в ране.

Ключевые слова: сахарный диабет, лечение раны, повреждения кожи, язва, крысы.

METHODS FOR SIMULATING DIABETIC ULCERS IN ANIMAL EXPERIMENTS

Chernetsova Anna Dmitrievna, Shukshina Anna Andreevna, Shukshina Yana Andreevna, Sharova Svetlana Alekseevna

Department of Anatomy, Topographic Anatomy and Operative Surgery

Ural State Medical University

Yekaterinburg, Russia

Abstract

Introduction. Modeling diabetic complications in laboratory animals is an important step for the development of new therapeutic strategies in the treatment of diabetes mellitus. The review discusses methods for experimental modeling of diabetic ulcers in rats. **The aim of this study** to identify methods for the formation of diabetic ulcers, to determine the advantages and disadvantages of methods, to indicate the timing of wound healing and mortality of experimental animals. **Material and methods.** Analysis of publications from the scientific electronic database eLibrary, Google Scholar, an open full-text archive of articles from biomedical and natural science journals PubMed on various methods for modeling diabetic ulcers in animals with a generalization and description of the results obtained. **Results.** Literature data on the applied methods for modeling diabetic ulcers are summarized: a round wound on the back, a wound on the paw. The features of wound modeling and the timing of their healing are shown. **Conclusion.** A round wound of 20 mm or more is closest to the form of clinical manifestation of trophic, it allows you to qualitatively study many pathological processes occurring in the wound, to study the influence of medicinal drugs on the course of the pathological process in the wound.

Keywords: diabetes mellitus, wound treatment, skin damage, ulcer, rats.

ВВЕДЕНИЕ

Согласно данным клинико-эпидемиологического отчета, общая численность больных сахарным диабетом в РФ на 31.12.2016, составила 4 348 422 человека, что соответствует 3,0 % населения нашей страны [1].

Одним из наиболее частых осложнений сахарного диабета является синдром диабетической стопы, ведущим клиническим симптомом которого является персистенция язвенного дефекта на мягких тканях нижних конечностей. Развиваясь на фоне нейропатии, ишемии и постоянного травмирования, дополненных метаболическими сдвигами, индуцированными гипергликемией, такие язвенные дефекты плохо поддаются лечению, что в свою очередь часто приводит к более длительному заживлению раны, а в тяжелых случаях – к ампутации. Результаты эпидемиологических исследований демонстрируют, что трофические изменения в тканях стопы наблюдаются у 15,0–25,0 % больных сахарным диабетом, а количество пациентов с синдромом диабетической стопы увеличивается каждый

год на 2,0–6,0 % [2]. Поэтому лечение ран у людей с сахарным диабетом является чрезвычайно важной клинической и социальной проблемой. Для разработки новых терапевтических стратегий необходимы соответствующие доклинические модели. В связи с чем, моделирование диабетических осложнений на лабораторных животных является актуальной задачей.

В обзоре рассмотрены способы экспериментального моделирования диабетической язвы на крысах. Данный вид животных часто используется для создания общепатологических процессов. На них изучают различные воздействия внешних факторов, стимулов, поведенческие реакции. Разведение, содержание и уход за крысами не требуют значительных усилий [3].

Цель исследования – по данным литературы определить возможные способы формирования диабетической язвы, определить преимущества и недостатки способов, обозначить сроки заживления ран и смертность экспериментальных животных.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Анализ публикаций из научной электронной базы eLibrary, Google Академии (Scholar), открытого полнотекстового архива статей биомедицинских и естественнонаучных журналов PubMed по различным методам моделирования диабетической язвы у животных с обобщением и описанием полученных результатов. Поиск в базах данных осуществлялся по ключевым словам: сахарный диабет, лечение раны, повреждения кожи, язва, крысы.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Патогенез сахарного диабета чрезвычайно сложен, поэтому ни одна из существующих моделей его формирования не может воспроизвести весь диабетический патологический процесс и его вариации. В настоящее время разработано много вариантов создания экспериментального сахарного диабета у животных. В методике хирургической модели используется полное или частичное удаление поджелудочной железы (панкреатический СД). Химически гипергликемия индуцируется у животных путем внутрибрюшинного введения или инъекции в вену стрептозотоцина или аллоксана, приводящих к избирательному разрушению инсулин-продуцирующих бета-клеток поджелудочной железы [4]. У животных развивается сахарный диабет, что подтверждается анализами крови на уровень глюкозы. Все модели не в полной мере соответствуют диабетическим язвам у людей, поэтому рекомендуется после создания сахарного диабета у животных создавать рану через несколько месяцев для развития полной патологической картины сахарного диабета и его осложнений. Этот метод увеличивает затраты на содержание животных, однако приближает модели к реальной ситуации. Животные содержатся в виварии на протяжении 3-4 месяцев для полного развития патологического процесса, уровень сахара крови поддерживается добавлением в пищу животных углеводсодержащих продуктов, затем выполняется создание ран [5, 6].

Распространенным способом является формирование раны в виде круга на спине, что приближено к форме клинического проявления трофической раны.

После подготовки и обработки операционного поля на спинке у животного формируется круглая рана диаметром 25 мм, по краям раны накладывают кисетный шов для создания картины нарушения микроциркуляции. Следующими накладывают кожно-фасциальные узловые швы в целях удержания краев раны и предотвращения их сближения. На поверхности дна образованной раны производят рассечение поверхностной фасции поперечными и продольными, взаимоперпендикулярными разрезами, которые образуют ячейки размерами 5×5 мм [7, 6]. Преимуществами данного способа является то, что он позволяет формировать трофическую рану в эксперименте со всеми характерными для нее признаками: отек, гиперемия кожи в области раны, нарушенная микроциркуляция, локальная гипоксия, серозное отделяемое. Недостатками способа является наличие в ране большого количества шовного материала (кисетный шов, кожно-фасциальные узловые швы), а также использование двух видов швов приводит к увеличению времени оперативного вмешательства, что способствует увеличению наркозной нагрузки, риска апноэ и возможной гибели животного. У крыс без сахарного диабета моделированная таким способом рана

эпителизовалась в среднем к 18 суткам, в группе крыс с сахарным диабетом заживление раневого дефекта наступало от 45 суток.

Формирование круглых ран в центральной части спины на всю толщину кожи с помощью хирургического биопсийного перфоратора 8мм [8, 9] и 20 мм [10] технически выполняется проще и быстрее. Раны у животных получают одинакового диаметра и глубины, животные не нуждаются в длительной анестезии, что снижает риск возможной гибели животного. У крыс с сахарным диабетом заживление раневого дефекта 8 мм наступило на 21-22 сутки [8, 9], заживление дефекта 20 мм на 30 сутки [10].

Формирование трофической язвы с использованием силиконового кольца производится методом иссечения кожи до подкожной фасции диаметром 12 мм, на дно раны накладывается кисетный шов, к краям раны узловыми швами фиксируется силиконовое кольцо наружным диаметром 12 мм. Силиконовое кольцо исключает возможность краевой эпителизации раны. В эксперименте кольцо отпадает на 12-13 сутки вследствие прорезывания швов, и после этого рана эпителизуется на 17-18 сутки с момента операции [11]. Преимуществами формирования такой раны будет небольшой диаметр, удобство ухода за раной; недостатками – продолжительность операции, необходимость использования дополнительных расходных материалов, небольшие сроки заживления раны.

Моделирование диабетической язвы на стопе животного. В данном способе с помощью скальпеля на коже подошвенной поверхности задней лапы крысы создают прямоугольную рану полной толщины 2 мм × 5 мм. Рана заживает на 13-14-е сутки эксперимента [12, 13].

Ещё один способ моделирования диабетической язвы - это создание иссеченной раны размерами 4х4 мм на тыльной стороне задней стопы. Ножницами иссекается участок кожи на всю толщину прямоугольной формы. Сокращение раны: через 14 суток площадь раны равнялась $8,42 \pm 0,15 \text{ мм}^2$ от первоначальных 16 мм^2 [14, 15].

Другой способ формирования раны на стопе предусматривает создание круглой раны на всю толщину кожи на тыльной поверхности стопы с помощью одноразового перфоратора для биопсии кожи и ножниц Уэсткотта. По данным разных исследований на 15-й день эксперимента раны сократились с площади $28,3 \text{ мм}^2$ (диаметр 6 мм) до $26,3 \pm 2,4 \text{ мм}^2$ [16] и с $19,63 \text{ мм}^2$ (диаметр 5 мм) до $16,6 \pm 2,1 \text{ мм}^2$ [17]. Круглая иссеченная рана (диаметром 6-8 мм) обеспечивает более медленное сокращение раны у животных, чем в случае квадратной или звездчатой раны.

Преимуществом формирования ран на лапах животного является то, что модель может имитировать синдром диабетической стопы, но не полноценно из-за различий в архитектуре тканей и иммунных реакциях между людьми и крысами. Рана на лапе более предпочтительна, чем рана на спине у животных, у которых высокая густота волосяного покрова может привести к увеличению скорости реэпителизации, но в то же время, существует риск повреждения собственной раны животным (например, сгрызание повязок, вылизывание, расчесывание и удаление швов) [18].

ВЫВОДЫ

1. Во всех способах удастся сформировать трофическую рану со всеми характерными для нее признаками, но круглая рана по форме наиболее приближена к форме клинического проявления трофической раны.

2. Локализация раны имеет большое значения для эксперимента. Раны, локализованные на конечностях животного (стопе), соответствует наиболее часто встречающейся в клинике диабетической стопы у людей и при этом сопряжены с риском инфицирования и дополнительной травматизации.

3. Благодаря моделированию диабетических язв в эксперименте на животных можно качественно изучить патологические процессы, протекающие в ране, а также отследить изменения в общем состоянии организма. Также моделирование раны в эксперименте позволяет оценить влияние различных лечебных препаратов на течение раневого процесса. Препараты, которые подтвердят свою эффективность при использовании на модели

диабетической язвы, в перспективе могут использоваться для лечения диабетических язв у людей.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Дедов, И.И. Эпидемиология сахарного диабета в Российской Федерации: клинко-статистический анализ по данным Федерального регистра сахарного диабета / И.И. Дедов, М.В. Шестакова, О.К. Викулова // Сахарный диабет. – 2017. – Т. 20. – № 1. – С. 13-41.
2. Пациентская модель для хирургического лечения и реабилитации синдрома диабетической стопы / О.В. Зеленова, В.А. Митиш, Ю.С. Пасхалова, С.И. Абрамов // Раны и раневые инфекции. Журнал имени проф. Б.М. Костюченко. – 2018. – Т. 5, № 2. – С. 58-79.
3. Урузбаев, Р. М. Морфологическая характеристика кожного покрова сирийского хомяка / Р.М. Урузбаев, В.Г. Бычков, Л.В. Вихарева // Уральский медицинский журнал. – 2018. – № 2(157). – С. 121-123.
4. Самотруева, М.А. Сахарный диабет: особенности экспериментального моделирования / М.А. Самотруева, М.У. Сергалиева // Астраханский медицинский журнал. – 2019. – Т. 14, № 3. – С. 45-57.
5. Довнар, Р.И. Моделирование кожных ран в эксперименте / Р.И. Довнар // Новости хирургии. – 2021. – Т. 29, № 4. – С. 480-489.
6. Куликова, А.Б. Моделирование инфицированной раны у крыс с длительно текущим сахарным диабетом / А.Б. Куликова, Л.В. Кочетова, Е.А. Хапилина // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2021. – Т. 14, № 4(53). – С. 260-264.
7. Патент № 2688460 С1 Российская Федерация, МПК G09B 23/28. Способ моделирования трофической язвы в эксперименте: № 2018119451: заявл. 25.05.2018; опубл. 22.05.2019 / М.В. Аралова, Д.А. Атякшин, Ю.Н. Алимкина [и др.].
8. Wound Healing in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats Using Atmospheric-Pressure Argon Plasma Jet / K.Y. Cheng, Z.H. Lin, Y.P. Cheng [et al.] // Scientific reports. – 2018. – Vol. 8. – № 1. – P. 12214.
9. Tissue responses to postoperative laser therapy in diabetic rats submitted to excisional wounds / C. de Loura Santana, Dde F Silva, A.M. Deana [et al.] // PLoS One. – 2015. – Vol. 10. – № 4. – P. e0122042.
10. A Protocol for Constructing a Rat Wound Model of Type 1 Diabetes / W. Wang, D. Bai, C. Wu [et al.] // JoVE (Journal of Visualized Experiments). – 2023. – № 192. – P. e64914.
11. Барановский, Ю.Г. Способ моделирования трофической язвы у лабораторных мышей в опытной модели / Ю.Г. Барановский, Е.Ю. Шаповалова, Ф.Н. Ильченко // Вестник неотложной и восстановительной хирургии. – 2016. – Т. 1, № – С. 258-260.
12. Зохиров, А.Р. Патоморфологические особенности заживления ран при экспериментальной модели диабетической стопы / А.Р. Зохиров, Х.И. Эрнazarов, У.Ю. Эргашев // Материалы 64-ой научно-практической конференции обучающихся «Наука и здоровье» посвящённая дню науки республики Казахстан с международным участием – 2022. – С. 635-637.
13. Low-magnitude high-frequency vibration accelerated the foot wound healing of n5-streptozotocin-induced diabetic rats by enhancing glucose transporter 4 and blood microcirculation / C.O. Yu, K.S. Leung, J.L. Jiang [et al.] // Scientific reports. – 2017. – Vol. 7. – № 1. – P. 11631.
14. An in vivo investigation on the wound-healing effect of two medicinal herbs using an animal model with foot ulcer / T.W. Lau, D.S. Sahota, C.H. Lau [et al.] // European Surgical Research. – 2008. – Vol. 41. – № 1. – P. 15-23.
15. Lv, Y. Effect and mechanism of SHED on ulcer wound healing in Sprague-Dawley rat models with diabetic ulcer / Y. Lv, L. Ge, Y. Zhao // American journal of translational research. – 2017. – Vol. 9. – № 2. – P. 489.
16. Role and effect of vein-transplanted human umbilical cord mesenchymal stem cells in the repair of diabetic foot ulcers in rats / R. Shi, W. Lian, Y. Jin [et al.] // Acta Biochimica et Biophysica Sinica. – 2020. – Vol. 52. – № 6. – P. 620-630.
17. Localization of human adipose-derived stem cells and their effect in repair of diabetic foot ulcers in rats / R. Shi, Y. Jin, C. Cao [et al.] // Stem cell research & therapy. – 2016. – Vol. 7. – № 1. – P. 1-13.
18. The characterization of a full-thickness excision open foot wound model in n5-streptozotocin (STZ)-induced type 2 diabetic rats that mimics diabetic foot ulcer in terms of reduced blood circulation, higher C-reactive protein, elevated inflammation, and reduced cell proliferation / C.O. Yu, K.S. Leung, K.P. Fung [et al.] // Experimental animals. – 2017. – Vol. 66. – № 3. – P. 259-269.

Сведения об авторах

А.Д. Чернецова – студент лечебно-профилактического факультета

А.А. Шукшина* – студент лечебно-профилактического факультета

Я.А. Шукшина – студент лечебно-профилактического факультета

С.А. Шарова – старший преподаватель

Information about the authors

A.D. Chernetsova – Student of medical faculty

A.A. Shukshina* – Student of medical faculty

Y.A. Shukshina – Student of medical faculty

S.A. Sharova – Senior Lecturer

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

shukshinaanya2003@mail.ru